

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 11-352094

(43)Date of publication of application : 24.12.1999

(51)Int.Cl.

G01N 27/327

G01N 27/28

G01N 27/30

(21)Application number : 10-163375

(71)Applicant : MATSUSHITA ELECTRIC IND CO
LTD

(22)Date of filing : 11.06.1998

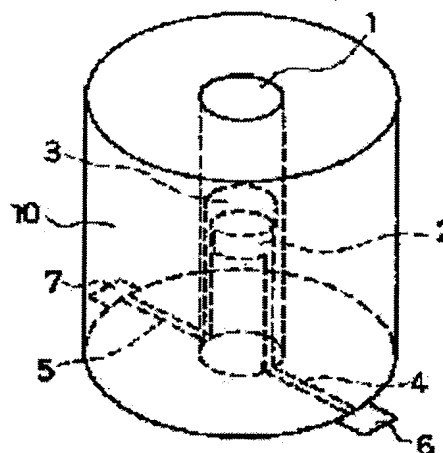
(72)Inventor : YOSHIOKA TOSHIHIKO
IKEDA MAKOTO
WATANABE KIICHI
NANKAI SHIRO

(54) ELECTROCHEMICAL ANALYSIS ELEMENT

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To highly accurately, quickly and easily determine a substrate (specific components) contained in trace amount of a sample by forming an electrode system having a working electrode and a counter electrode and a reagent part, including an enzyme at an inner wall face of an opened hollow part of a sensor main body.

SOLUTION: A cylindrical sensor 10 has a circular cylindrical hollow part 1 at the center. An electrode system comprising a working on electrode 2 and a counter electrode 3 is formed at the inner wall face of the hollow part, and moreover a reagent part including an enzyme is formed on the working electrode 2. When a sample solution, including a substrate, is supplied into the hollow part 1 through an opening part, the reagent part is dissolved in the sample solution, and the substrate in the sample solution selectively reacts with the enzyme. At the same time as the progress of this oxidation reaction, the dissolved oxygen in the sample solution is reduced to hydrogen peroxide. The hydrogen peroxide is oxidized, when an appropriate voltage is impressed to the electrode system. A response current generated at this time is proportional to the concentration of the generated hydrogen peroxide, i.e., a concentration of the substrate in the sample solution. Consequently, the concentration of the substrate in the sample solution can be obtained by measuring the value of the response current.



LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

18.01.2001

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than

the examiner's decision of rejection or
application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number] 3389106

[Date of registration] 17.01.2003

[Number of appeal against examiner's decision
of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's
decision of rejection]

[Date of extinction of right]

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平11-352094

(43) 公開日 平成11年(1999)12月24日

(51) Int. Cl. ⁶
G01N 27/327
27/28 301
27/30

F I
G01N 27/30 353 Z
27/28 301 Z
27/30 F

審査請求 未請求 請求項の数6 O L (全6頁)

(21) 出願番号 特願平10-163375

(22) 出願日 平成10年(1998)6月11日

(71) 出願人 000005821

松下電器産業株式会社

大阪府門真市大字門真1006番地

(72) 発明者 吉岡 俊彦

大阪府門真市大字門真1006番地 松下電器
産業株式会社内

(72) 発明者 池田 信

大阪府門真市大字門真1006番地 松下電器
産業株式会社内

(72) 発明者 渡邊 基一

大阪府門真市大字門真1006番地 松下電器
産業株式会社内

(74) 代理人 弁理士 石井 和郎

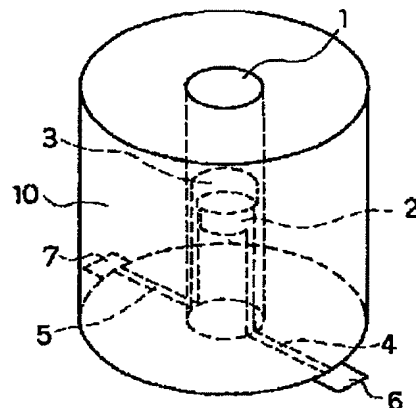
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 電気化学分析素子

(57) 【要約】

【課題】 微量の試料液中の基質濃度を正確に測定できるバイオセンサを提供する。

【解決手段】 両端を開口した中空部1を有するセンサ本体10、作用極2と対極3を有する電極系、および酵素を含む試薬部を具備し、前記電極系と試薬部が前記中空部の内壁面に形成された電気化学分析素子。



1 中空部	4, 5 リード
2 作用極	6, 7 リードコネクタ
3 対極	10 センサ本体

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 両端を開口した中空部を有するセンサ本体、作用極と対極を有する電極系、および酵素を含む試薬部を具備し、前記電極系と試薬部が前記中空部の内壁面に形成されたことを特徴とする電気化学分析素子。

【請求項 2】 作用極と対極が前記中空部の内壁面の相対向する位置に配置された請求項 1 に記載の電気化学分析素子。

【請求項 3】 試薬部がさらに電子受容体を含む請求項 1 または 2 に記載の電気化学分析素子。

【請求項 4】 試薬部が作用極上へ配置された請求項 1、2 または 3 に記載の電気化学分析素子。

【請求項 5】 前記中空部の開口部の少なくとも一方に、フィルタ層が配置された請求項 1 ～ 4 のいずれかに記載の電気化学分析素子。

【請求項 6】 前記中空部の両端開口部がフィルムにより密封された請求項 1 ～ 5 のいずれかに記載の電気化学分析素子。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、血液、汗等の生体試料、あるいは食品工業における原料、製品などの試料中に含まれる特定成分を高精度で、迅速かつ容易に定量し得る電気化学分析素子に関する。

【0002】

【従来の技術】生体試料および食品中の特定成分（基質）を、試料液の希釈および攪拌などを行なうことなく、簡易に定量し得る電気化学分析素子の一例として、次のようなバイオセンサが知られている（特開平 3 - 2 0 2 7 6 4 号公報）。このバイオセンサは、絶縁性基板上にスクリーン印刷などの方法によって電極系を形成し、この電極系上に酸化還元酵素および電子受容体を含む反応層を形成したものである。このバイオセンサは、以下のようにして、試料中の基質濃度を定量する。まず、試料液をバイオセンサの反応層上に滴下することにより、反応層が溶解し、試料液中の基質と反応層の酸化還元酵素との間で酵素反応が進行する。この酵素反応に伴い、電子受容体が還元される。一定時間後、センサの電極に電圧を印加して、還元された電子受容体を電気化学的に酸化し、このとき得られる酸化電流値から試料液中の基質濃度を定量する。

【0003】

【発明が解決しようとする課題】従来の分析素子においては、数マイクロリットル以上の試料があれば、試料中の基質濃度を容易に求めることができる。しかし、数マイクロリットルに満たない微量の試料については、信頼性のある測定が難しくなる場合がある。従って、本発明は、微量の試料について信頼性のある測定を可能にする電気化学分析素子を提供することを目的とする。

【0004】

【課題を解決するための手段】本発明の電気化学分析素子は、両端を開口した中空部を有するセンサ本体、作用極と対極を有する電極系、および酵素を含む試薬部を具備し、前記電極系と試薬部が前記中空部の内壁面に形成されたことを特徴とする。作用極と対極は、前記中空部の内壁面の相対向する位置に配置されることが好ましい。試薬部は、さらに電子受容体を含むことが好ましい。試薬部は、作用極上へ配置されるのが好ましい。

【0005】前記中空部の開口部の少なくとも一方に、フィルタ層が配置されていると、全血を試料としたとき、全血がフィルタ層を通る際に赤血球が濾過される。したがって、赤血球が試薬部へ到達することによる不都合をなくすることができる。また、前記中空部の両端開口部を樹脂フィルムやアルミラミネートフィルムなどによって密封する構成にすると、試薬部の保存信頼性を高めることができる。本発明によれば、グルコース酸化酵素を含む試薬部を備えることにより、体液中のグルコースを定量する電気化学分析素子が得られる。また、コレステロール酸化酵素とコレステロールエステラーゼを含む試薬部を備えることにより、体液中のコレステロールを定量する電気化学分析素子が得られる。

【0006】

【発明の実施の形態】本発明の電気化学分析素子の好ましい実施態様について、以下に説明する。図 1 は、本発明による電気化学分析素子の外観図であり、図 2 は同電気化学分析素子の平面図である。電気絶縁性の材料からなる筒状のセンサ本体 10 は、その中央に円筒形の中空部 1 を有し、その内壁面に、作用極 2 と対極 3 からなる電極系、および前記各電極につながるリード 4 と 5 を形成し、さらに、作用極上に酵素を含む試薬部 9 を形成している。リード 4 および 5 は、それぞれ作用極 2 および対極 3 と接触しており、それぞれの先端はリードコネクタ部 6 および 7 となってセンサ本体の底面において外側へ突出している。図 1 では試薬部 9、および作用極のリード 4 を被覆する絶縁層を除いてある。作用極のリード 4 を絶縁層で被覆することにより、作用極の面積を規定するのが好ましい。しかし、その絶縁層は省略することも可能である。その場合、リード 4 に相当する部分から作用極 2 までが、電気化学的な作用極として機能する。従って、絶縁層を省略した場合には作用極 2 とリード 4 の構成材料は同じにすることが好ましい。さらに、本発明の電気化学分析素子は、その精度をさらに安定させるために、作用極 2 および対極 3 に加えて参照極を有する三電極系を本体の中空部 1 の内壁面に形成させてもよい。酵素を含む試薬部 9 は、中空部内であればその形成位置は問わないが、特に好ましい位置は、作用極 2 上である。

【0007】センサ本体 10 の中空部 1 の形状は、必ずしも円筒形である必要はない。図 3 および図 4 は、別の実施形態の電気化学分析素子を示している。図 3 では試

薬部9を除いてある。図5は、同電気化学分析素子を第1部品と第2部品に分解した図である。センサ本体10は、第1部品10aと第2部品10bで構成され、中空部1は第2部品10bに設けた断面半円形の溝1aが第1部品で封じられて形成される。第1部品10aの前記溝1aに対向する平面上に、作用極2およびそのリード4が形成され、さらにリード4を被覆する絶縁層8が形成されている。作用極2の電極作用面積をより精度よく制御するために、絶縁層によって作用極2の外周部を覆うようにすることも可能である。また、第2部品10bの溝1a内には、対極3およびそのリード5が形成されている。対極3は、第1部品10a側へ設けることもできる。

【0008】上記電極系およびリードは、センサ本体の中空部の内壁面に公知の方法、例えばスパッタ等の手段によって設けることができる。必要な部分にマスクをしてスパッタ等の方法で形成してもよい。また、全面にスパッタした後、レーザートリミング等の手段によって不要部分を除去することもできる。さらに、適当な金属箔を、熱あるいは超音波融着によってセンサ本体に貼り付けてもよい。リードおよび電極の材料としては、公知の導電性材料が使用できる。例としては、カーボン、銀、白金、金、およびパラジウム等が挙げられる。試薬部は、以下のようにしてセンサ本体の中空部内に配置することができる。酵素を含む水溶液をセンサ本体の中空部内壁面へピペット等の手段により滴下し、乾燥する。または、酵素を含む水溶液中へセンサ本体を浸漬した後、乾燥させることにより、試薬部を形成してもよい。この場合、試薬部は中空部の内壁面に均一に形成することができる。

【0009】本発明の電気化学分析素子においては、酵素と親水性高分子を含む水溶液をセンサ本体の中空部内壁面へ滴下し、乾燥して試薬部を形成することもできる。この場合、中空部内壁面に対する試薬部の密着性を高めることができる。このような親水性高分子としては、カルボキシメチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、メチルセルロース、エチルセルロース、エチルヒドロキシエチルセルロース、カルボキシメチルエチルセルロース、ポリビニルピロリドン、ポリビニルアルコール、ポリリジンなどのポリアミノ酸、ポリスチレンスルホン酸、ゼラチンおよびその誘導体、ポリアクリル酸およびその塩、ポリメタアクリル酸およびその塩、スターチおよびその誘導体、無水マレイン酸またはその塩の重合体などが挙げられる。さらに本発明の電気化学分析素子は、必要に応じて試薬部中へ電子受容体を含むことができる。電子受容体としては、フェリシアンイオン、p-ベンゾキノンおよびその誘導体、フェナジンメトサルフェート、メチレンブルー、フェロセンおよびその誘導体などが挙げられる。電子受容体は、これらの1種またはそれ以上

が用いられる。

【0010】本発明の電気化学分析素子は、図6に示すように、中空部1の試料供給口となる上面開口部側にフィルター11を貼付しておくのが好ましい。このフィルターによって、全血を試料としたとき、全血がフィルタ層を通る際に赤血球が濾過される。本発明の電気化学分析素子は、また、図7に示すように、中空部1の両端開口部をシール材からなるフィルム12によって覆うことができる。素子の使用に際しては、前記フィルム12を取り除く必要があるが、このフィルムを設置することによって、保存信頼性を高める効果が得られる。

【0011】本発明の電気化学分析素子の動作について、以下に説明する。特定成分(基質)を含有する試料液を、センサ本体の中空部1内へその一方の開口部から供給する。酵素を含む試薬部は、供給された試料液に溶解し、試料液中の基質は、酵素と選択的に反応する。酵素による基質の酸化反応が進行し、これと同時に、試料液内の溶存酸素は過酸化水素に還元される。この後に、電極系に適当な電圧を印加すると、過酸化水素が酸化される。この時生じる応答電流は、生成した過酸化水素濃度、すなわち試料液内の基質濃度に比例する。従って、前記の応答電流値を測定することにより、試料液中の基質濃度が求められる。試薬部にあらかじめ適当な電子受容体を含むと、過酸化水素が生成する代わりに、酵素反応と同時に電子受容体の還元体が生成する。この後に、電極系に適当な電圧を印加すると、電子受容体の還元体が酸化される。この時生じる応答電流は、生成した電子受容体の還元体濃度、すなわち試料液内の基質濃度に比例するから、その応答電流値を測定することにより、試料液中の基質濃度が求められる。

【0012】電極系が一平面上にあり、かつ試料が極微量な場合には、電極間の電荷移動、主にイオンの移動、に対する抵抗が大きくなるから、測定結果にばらつきが生ずる場合がある。本発明の電気化学分析素子においては、センサ本体の中空部の内壁面に作用極と対極とを対向させて配置できるから、電極間のイオンの移動を円滑にして、測定精度を上げることができる。また、センサ本体の中空部の径を小さくすれば、中空部の一方の開口部に試料を接触させるだけで毛管現象により試料を電極系へ供給することができる。したがって、微量の試料量でも高精度の測定ができる。

【0013】本発明の電気化学分析素子は、センサ本体の中空部内に設けられた電極系へ試料を供給することにより、試料中の特定成分を定量する。従って、生体から血液などの試料を採取する方法として、センサ本体の中空部の一方の開口部を例えば生体の皮膚にあてがい、中空部の他方の開口部側から体液滲出装置を作動させて皮膚に傷をつけ、そこから出液する血液をそのまま皮膚に接する開口部から中空部内へ供給させることができる。体液滲出装置としては、レーザ光発射装置やランセット

などが用いられる。以下の実施例においては、センサ本体は、円筒形であり、センサ本体には 1 個のセンサが設けられた例が示されている。しかし、本発明の電気化学分析素子は、これらに限定されるものではない。例えば、センサ本体を帯状に伸びた絶縁性部材で構成し、上下に貫通する穴をセンサ本体の長手方向に沿って複数配列し、各々の穴、すなわち中空部内に電極系を形成すれば、1 つのセンサ本体に複数の分析素子が組み込まれる。同様に円盤状の絶縁性部材でセンサ本体を構成し、上下に貫通する複数の穴を円盤の周縁に沿って円形に配列すれば、1 つのセンサ本体に複数の分析素子が組み込まれる。このように複数の素子を組み合わせた場合は、各素子の電極のリードの配列および測定器との接続を工夫することにより、特定の素子を自在に選択できるようにするのが好ましい。

【0014】

【実施例】以下、本発明の電気化学分析素子を実施例に基づいて具体的に説明するが、本発明はこれらの実施例に限定されるものではない。なお、各実施例の説明に用いられる図面において、共通する要素には同一番号を付

【0015】《実施例 1》図 1 のセンサ本体 10 の中空部 1 の内壁面に、スパック手段によって白金材料からなる作用極 2、対極 3、リード 4、およびリード 5 を形成した。リード 4 上に絶縁性の高分子薄膜を熱融着させて絶縁層を形成した。作用極 2 上に、グルコースオキシダーゼ（以下、GOD と略す。）の水溶液を滴下し、乾燥させて試薬部 9 を形成した。こうして電気化学分析素子を作製した。同素子の応答特性評価を以下の手順にて実施した。試料液としてグルコース水溶液を中空部 1 の上部開口部、すなわちリードコネクタ 6 および 7 を有する側とは反対側から供給した。試料液の供給から 30 秒後に、対極 3 を基準にして作用極 2 に +0.7 V の電圧を印加した。そして、電圧印加から 5 秒後の電流値を測定した。この電流値は、酵素反応の伴って生成した過酸化水素の濃度、すなわち試料液中のグルコース濃度に比例した。

【0016】《実施例 2》実施例 1 と同様にして、作用極 2、対極 3、リード 4 と 5、およびリード 4 を被覆する絶縁層を形成した。材料としては、白金の代わりにカーボンを用い、印刷手段を用いて形成した。作用極 2 上に、酵素 GOD と、電子受容体フェリシアン化カリウムを含む水溶液を滴下し、乾燥させて試薬部 9 を形成した。さらに、図 6 に示したように、中空部の上部開口部に接して、ガラス繊維を主成分とするフィルタ層 11 を設置して電気化学分析素子を作製した。同電気化学分析素子に、フィルタ層 11 を介して、実施例 1 と同様にしてグルコース水溶液を供給し、その応答特性を評価したところ、グルコース濃度と応答電流の間に比例関係が得られた。次に、フィルタ 11 を介して全血を供給し、そ

の応答特性を評価した。全血はフィルタ層 11 を通る際に赤血球が濾過され、血漿成分が試薬部 9 へ到達した。試薬部は、血漿に溶解し、血漿中のグルコースは、GOD により酸化される。同時に試薬部中のフェリシアンイオンが還元され、フェロシアンイオンが生成する。全血の供給から 30 秒後に、対極 3 を基準にして作用極 2 に +0.5 V の電圧を印加してフェロシアンイオンを酸化した。そして、電圧印加から 5 秒後の電流値を測定した。この電流値は、生成したフェロシアンイオンの濃度、すなわち全血中のグルコース濃度に比例した。

【0017】《実施例 3》GOD の代わりに、コレステロール酸化酵素コレステロールオキシダーゼと、コレステロールエステラーゼを用いた他は、実施例 2 と同様の電気化学分析素子を作製した。この素子を用いて全血中のエステル型コレステロールとフリー型コレステロールの総和（総コレステロールと略す。）の定量を試みた。全血中のエステル型コレステロールはコレステロールエステラーゼによって触媒反応を受けてフリー型コレステロールが生成した。上記触媒反応によって生成したフリー型コレステロールと、初めから全血中に存在したフリー型コレステロールは、コレステロールオキシダーゼにより酸化される。同時に試薬部中のフェリシアンイオンが還元され、フェロシアンイオンが生成する。全血の供給から 3 分後に、対極 3 を基準にして作用極 2 に +0.5 V の電圧を印加してフェロシアンイオンを酸化した。そして、電圧印加から 5 秒後の電流値を測定した。この電流値は、生成したフェロシアンイオンの濃度、すなわち全血中の総コレステロール濃度に比例した。

【0018】

【発明の効果】以上のように本発明によれば、血液、尿等の生体試料、食品工業における原料や製品などの微量の試料中に含まれる基質（特定成分）を高精度で、迅速かつ容易に定量し得る電気化学分析素子を得ることができる。

【図面の簡単な説明】

【図 1】本発明の一実施例における電気化学分析素子の試薬部を除いた斜視図である。

【図 2】同電気化学分析素子の平面図である。

【図 3】本発明の他の実施例における電気化学分析素子の試薬部を除いた斜視図である。

【図 4】同電気化学分析素子の平面図である。

【図 5】同電気化学分析素子の分解斜視図である

【図 6】本発明の他の実施例における電気化学分析素子の試薬部を除いた斜視図である。

【図 7】本発明のさらに他の実施例における電気化学分析素子の試薬部を除いた斜視図である。

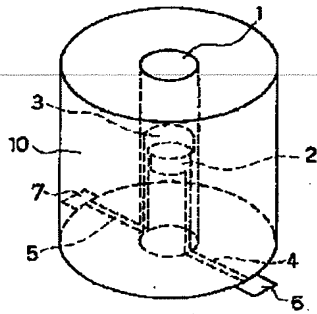
【符号の説明】

- 1 中空部
- 2 作用極
- 3 対極

4、5 リード
6、7 リードコネクタ
8 絶縁層
9 試薬部
10 センサ本体

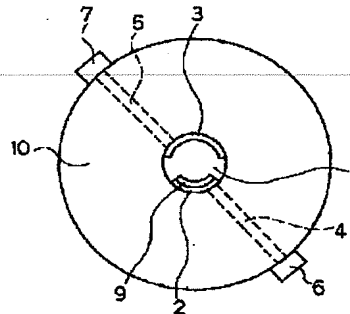
10 a センサ本体の第1部品
10 b センサ本体の第2部品
11 フィルタ層
12、13 フィルム

【図1】

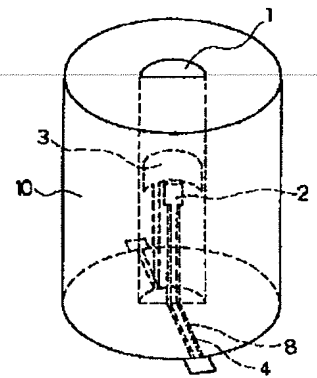


1 中空部
2 作用極
3 対極
4、5 リード
6、7 リードコネクタ
10 センサ本体

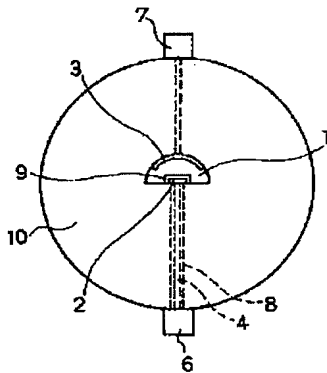
【図2】



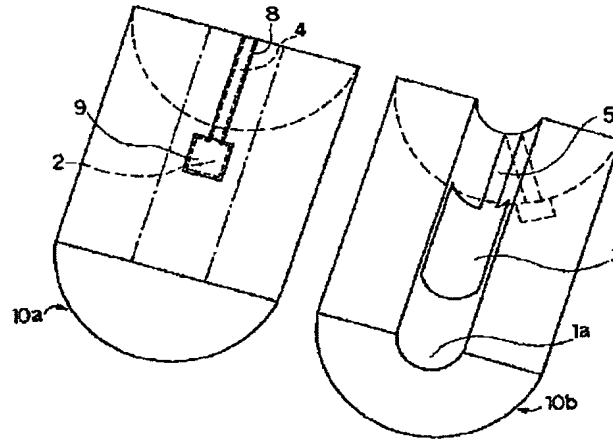
【図3】



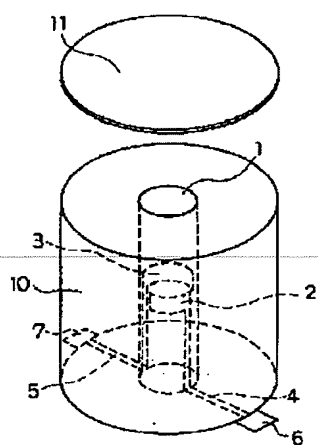
【図4】



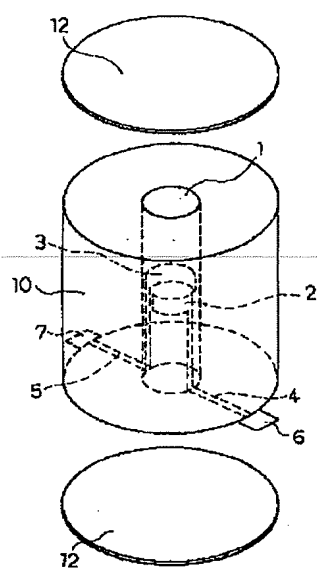
【図5】



【図 6】



【図 7】



フロントページの続き

(72)発明者 南海 史朗
大阪府門真市大字門真1006番地 松下電器
産業株式会社内